

BAB III

METODE PENELITIAN

1.1 Objek dan Lokasi Penelitian

Objek penelitian ini adalah limbah penyulingan minyak akar wangi yang diperoleh dari sentra industri penyulingan minyak akar wangi yang berlokasi di Kampung Legok Pulus Desa Sukakarya Kecamatan Samarang Kabupaten Garut Jawa Barat.

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Material dan Hayati Jurusan Pendidikan Kimia UPI dan Laboratorium Entomologi Kesehatan Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

1.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, meliputi (1) peralatan yang digunakan untuk mengekstraksi limbah penyulingan minyak akar wangi, yaitu *blender* listrik, set alat maserasi, pompa *vacum*, corong *Buchner*, *vacum rotary evaporator*, *freeze dryer*, neraca analitik, dan peralatan gelas lainnya; dan (2) peralatan untuk uji efikasi terhadap telur dan nyamuk *Aedes aegypti*, yaitu *peet grady chamber*, kandang nyamuk, *ovitrap*, dan kontainer plastik.

1.2.2 Bahan

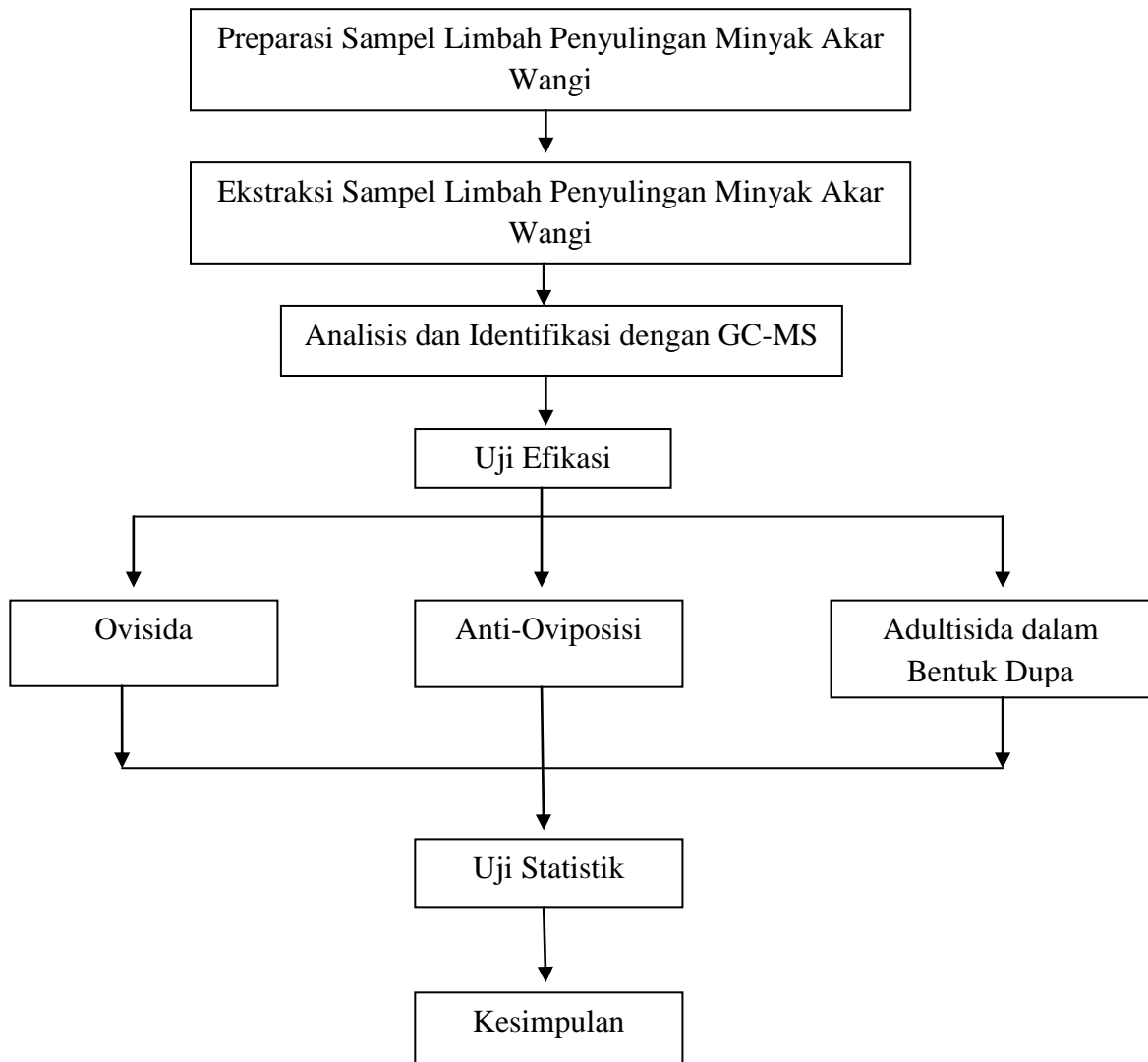
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, meliputi (1) bahan untuk mengekstraksi limbah penyulingan minyak akar wangi, yaitu etanol, aquades, dan kertas saring *Whatman*; (2) bahan untuk pembuatan dupa anti nyamuk, yaitu etanol, kertas, dan batang lidi; dan (3) bahan untuk uji efikasi, yaitu etanol, aquades, dan kain kassa.

1.2.3 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan untuk uji efikasi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah telur nyamuk *Aedes aegypti*, nyamuk *Aedes aegypti* betina, dan marmut.

1.3 Bagan Alir Penelitian

Tahap penelitian yang dilakukan ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Bagan alir penelitian

1.4 Prosedur Penelitian

1.4.1 Preparasi Sampel

Limbah penyulingan minyak akar wangi yang kotor dicuci dengan air yang mengalir sampai bersih. Setelah itu dikeringkan dengan dianginkan selama 3 hari. Limbah penyulingan minyak akar wangi yang telah kering kemudian dipotong-potong dan dihaluskan dengan *blender* listrik.

1.4.2 Ekstraksi Sampel

Sebanyak 2,05 kg limbah penyulingan minyak akar wangi yang halus ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam set alat maserasi dan ditambahkan 20 liter etanol. Proses maserasi dilakukan selama 24 jam dengan sesekali dilakukan pengadukan. Maserat yang diperoleh kemudian disaring menggunakan corong *buchner* dan filtrat hasil penyaringan dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator*. Selanjutnya, ekstrak pekat dikeringkan menggunakan *freeze dryer* selama 24 jam.

1.4.3 Analisis GC-MS

Analisis GC-MS dilakukan dengan kondisi pengujian yang dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Aspek Analisis	Keterangan
Jenis kolom	Semi polar
Nama kolom	DB5-MS
Jenis detektor	FTD
Waktu awal	0 menit
Waktu akhir	35,75 menit
Suhu kolom	60°C
Suhu injeksi	280°C
Mode injeksi	Split
Mode kontrol aliran	Velositas linier
Velositas linier	41,7 cm/detik
Tekanan	80,2 kPa
Total aliran	265,7 ml/menit
Aliran kolom	1,31 ml/menit
Waktu kesetimbangan	3 menit
Suhu sumber ion	230°C
Suhu <i>interface</i>	290°C

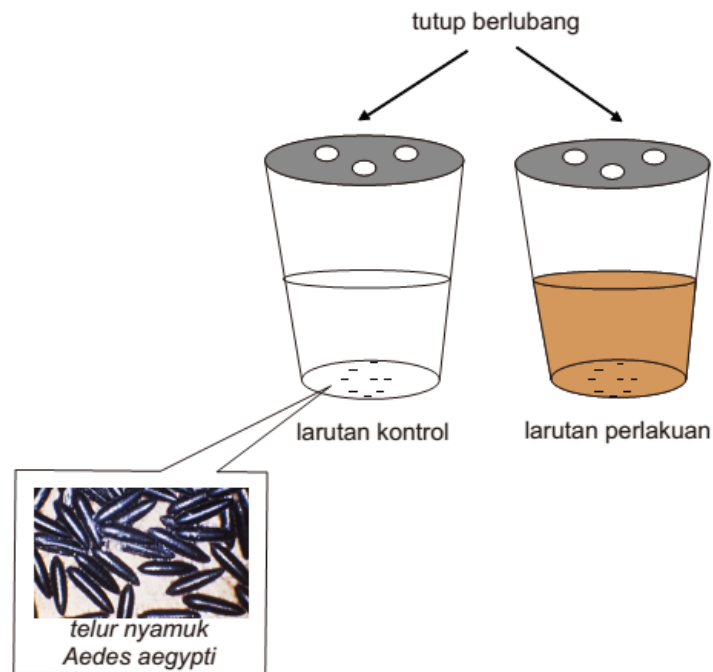
1.4.4 Pembuatan Dupa Anti nyamuk

Kertas HVS direndam dalam air selama 24 jam. Setelah itu, kertas dihaluskan menggunakan *blender* listrik hingga teksturnya menjadi seperti bubur. Kertas yang telah halus dicampurkan dengan ekstrak limbah penyulingan minyak akar wangi hingga homogen. Dupa dibuat dengan kadar 0; 0,7; 1,4; 2,1; 2,8; 3,5; dan 4,2% w/w. Campuran dicetak pada sebatang lidi dengan panjang 20 cm hingga membentuk dupa. Hasil pencetakan dikeringkan dengan *oven* pada suhu 60°C selama 6 jam.

1.4.5 Uji Efikasi

1.4.5.1 Uji Ovisida

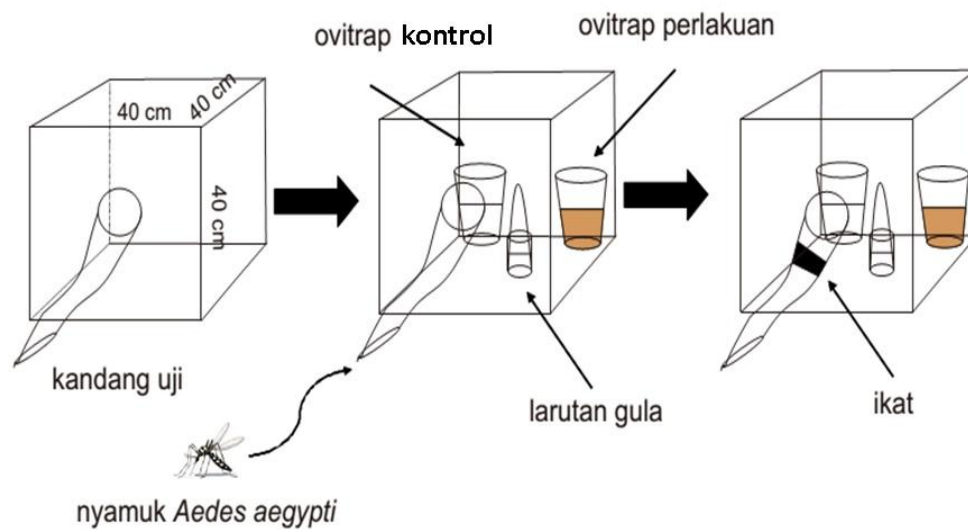
Enam mangkuk plastik disiapkan untuk pengujian, di mana lima mangkuk untuk larutan perlakuan dan satu mangkuk untuk kontrol. Larutan ekstrak limbah penyulingan minyak akar wangi dibuat dengan berbagai variasi konsentrasi yaitu 1000, 2000, 3000, 4000, dan 5000 ppm menggunakan pelarut etanol 1%. Masing-masing larutan tersebut dimasukkan ke dalam mangkuk plastik yang berbeda. Sebagai kontrol, ke dalam kontainer plastik dimasukkan larutan etanol 1% dalam air sebanyak 200 ml. Setelah itu dimasukkan 25 telur uji ke dalam masing-masing mangkuk plastik. Pengamatan dilakukan selama 24 jam (WHO, 2005). Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Untuk menghitung nilai *lethal concentration* (LC) dan *hatch time* (HT) dilakukan variasi waktu kontak dengan pengamatan berkala selama 1 jam pertama selang 5 menit, 6 jam berikutnya selang 1 jam, dan pengamatan terakhir pada jam ke 24. Skema pengujian ovisida ditunjukkan pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Skema uji ovisida

1.4.5.2 Uji Anti-Oviposisi

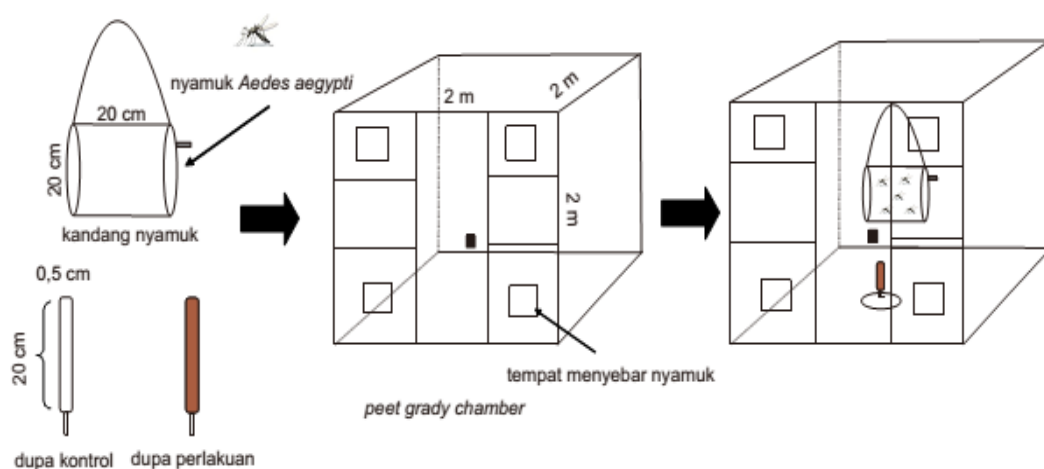
Lima kandang nyamuk berukuran 40 x 40 x 40 cm disiapkan untuk pengujian. Larutan ekstrak limbah penyulingan minyak akar wangi dibuat dengan berbagai variasi konsentrasi, yaitu 1000, 2000, 3000, 4000, dan 5000 ppm dengan pelarut etanol 1%. Sebanyak 20 nyamuk betina yang telah kenyang memakan darah dimasukkan ke dalam kandang. Dua *ovitrap* di sudut-sudut yang berlawanan dari tiap kandang, yang satu diisi larutan perlakuan dan yang lain diisi larutan kontrol. Posisi *ovitrap* diganti-ganti untuk menghilangkan efek posisi peletakan telur. Pengamatan dilakukan selama 3 hari (Xue *et al.*, 2001). Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Setelah diperoleh data, maka dilakukan analisis data untuk mencari nilai persentase repelan efektif (%RE) dan indeks aktivitas oviposisi (IAO). Skema pengujian anti-oviposisi ditunjukkan pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Skema uji anti-oviposisi

1.4.5.3 Uji Adultisida dalam Bentuk Dupa

Tujuh kandang kassa berukuran 20 x 20 x 20 cm disiapkan untuk pengujian. Sampel dupa anti nyamuk dibuat dengan berbagai kadar ekstrak limbah penyulingan minyak akar wangi, yaitu 0,7; 1,4; 2,1; 2,8; 3,5; dan 4,2% w/w. Sebagai kontrol dibuat dupa anti nyamuk tanpa ditambahkan ekstrak. Masing-masing sampel dupa anti nyamuk dimasukkan ke dalam tiap kandang kassa. Masing-masing kandang kassa digantungkan di dalam *peet grady*. Sampel dinyalakan dalam tiap *peet grady*. Pengamatan dilakukan selama 60 menit dengan selang waktu 5 menit (WHO, 2009). Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Skema pengujian adultisida dalam bentuk dupa ditunjukkan oleh Gambar 3.4.



Gambar 3.4 Skema uji adultisida dalam bentuk dupa